云 南 植 物 研 究　2003，25（6）：700～704
Acta Botanica Yunnanica

# 水杨酸对香荚兰抗逆相关酶的活性和丙二醛含量的影响[*]

蔡传杰[1]，陈善娜[1**]，尹　梅[1]，周恒苍[1,2]，王　乔[1]
（1 云南大学生物技术系，云南 昆明　650091；2 云南省香荚兰公司，云南 昆明　650031）

**摘要**：对大田栽培的香荚兰植株进行不同浓度的水杨酸（SA）处理，结果表明：较低浓度（25～100 mg/L）的 SA，使其叶片的 SOD、POD、PAL 和 PPO 活性增加，MDA 含量降低，抗逆性增强；而较高浓度的 SA（150～200 mg/L）则抑制了这些酶的活性、使 MDA 含量升高，抗逆性减弱。

**关键词**：香荚兰；水杨酸；抗逆性
**中图分类号**：Q 945　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253－2700(2003)06－0700－05

# Effects of Salicylic Acid on Some Enzyme Activities Related to Stress Resistance and Content of MDA in *Vanilla planifolia*

CAI Chuan-Jie[1]，CHEN Shan-Na[1]，YIN Mei[1]，ZHOU Heng-Cang[1,2]，WANG Qiao[1]
（1 *Department of Biotechnology*，*Yunnan University*，Kunming 650091，China；
2 *Yunnan Vanilla Company*，Kunming 650031，China）

**Abstract**：The activities of superoxide dismutase（SOD），peroxidase（POD），phenylalanine ammonia lyase（PAL），polyphenol oxidase（PPO）and the changes of the content of malonaldehydic acid（MDA）in cultivated *Vanilla* pretreated by different concentrations of salicylic acid（SA）and used for field crop have been studied. The results showed that the lower concentrations of SA（25－100 mg/L）can induce higher activities of SOD，POD，PAL，PPO and the reduce content of MDA，and strongly stress resistance；while higher concentrations of SA（150－200 mg/L）can restrain the enzyme activities and lead to the higher content of MDA and weaken the resistance

**Key words**：*Vanilla planifolia*；Salicylic acid；Stress resistance

云南西双版纳引进栽培的香荚兰（*Vanilla planifolia* Ames）属于兰科一种名贵香料作物，所需的气候、土壤等条件较苛刻，其生态环境也与原栽培地（墨西哥）不同，易受病害、低温等逆境伤害，尤其是在开花期遭低温侵袭时，花大量脱落，导致大面积减产。如

---

[*] 基金项目：云南省 95 攻关项目基金资助（95A2－8）、云南大学植物学博士点基金资助、云南大学省生物技术人才培养基金资助

[**] 通信联系人　E－mail：shnchen@ynu.edu.cn，　Tel：0871－5034670

收稿日期：2003－03－26，2003－07－25 接受发表

作者简介：蔡传杰（1971－）男，安徽人，硕士生，主要从事植物生理和分子生物学的研究。

1999 年冬季的低温导致园地大片植株萎蔫、坏死，伤害严重的园地至今也没有恢复。此后的每年春季（开花期），都遭遇不同程度的低温伤害，引起减产。在抗病方面，香荚兰公司针对不同病害的发病规律采取不同防治措施，有一套比较完善的做法，但是对低温的侵袭往往束手无策。水杨酸（salicylic acid，SA）作为一种小分子，普遍被认为是一种信号分子（Raskin，1992）；诱导相关基因的表达。外源施加 SA 可以诱发和病原菌侵染时类似的抗性反应，诱导产生防卫蛋白，及与抗性有关的酶等（余叔文等，1999）。SA 处理可能通过诱导抗氧化系统有关的酶产生从而导致耐冷性增强（Janda，1999）。

我们以西双版纳栽培的香荚兰为材料，试图通过外施不同浓度的 SA，测试与抗氧化系统有关的酶如超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化物酶（POD）以及与抗病有关的酶如苯丙氨酸解氨酶（PAL）和多酚氧化酶（PPO）的活性和膜脂过氧化产物丙二醛（MDA）的含量，选择最适浓度的水杨酸，以抵抗香荚兰在开花、结荚期间经常遇到的冰雹、倒春寒和病害等逆境，为提高香荚兰的抗逆性提供依据。

## 1　材料和方法

### 1.1　材料

选自西双版纳曼景傣种植场 12 号园地大田栽培的香荚兰植株。

### 1.2　处理方法

5 种浓度即 25 mg/L，50 mg/L，100 mg/L，150 mg/L 和 200 mg/L 的 SA 喷洒长势一致的 12 号园地的 5 块地，每天喷洒 2 次，连续喷洒 2 d。另选一块地作为对照。在处理后的 6 h，18 h，24 h，48 h，72 h 分别取材（包括对照），取材部位为第 8 ~ 10 片成熟叶，每个样品取 3 个平行样。每次取材完毕，迅速做好标记，放入液氮中带回实验室测定。取样时间为 2002 年 2 月和 3 月各一次。

### 1.3　测定方法

PAL、PPO、SOD 活性测定及 MDA 和蛋白质含量测定参照李合生（2000）的方法，稍有改动；POD 活性测定参照张志良（1990）的方法测定，稍有改动；以上实验均重复 3 次，取均值。

## 2　结果

### 2.1　不同浓度 SA 处理对香荚兰叶片 PAL 和 PPO 活性的影响

图 1 表明，25 mg/L，50 mg/L，100 mg/L 的 SA 处理后不同时间取样 PAL 活性的变化趋势，PAL 活性均比对照高。其中 100 mg/L 处理 48 h 达最高值，PAL 活性比对照高 93%，随后活性有所下降；而 150 mg/L，200 mg/L 处理 6 h 内，PAL 活性略高于对照，随后活性下降，18 h 以后酶活性均低于对照，最低低于对照 47%，可能是此时植株体内累积的 SA 浓度的过高抑制了酶活性。

由图 2 可见，100 mg/L 以下的 3 种 SA 浓度处理 PPO 活性增加显著，最高比对照高 130.6%（100 mg/L）；150 mg/L，200 mg/L 处理，PPO 活性均比对照低，最低比对照低 90.6%（200 mg/L），但随时间变化酶活性逐步回升。可见 100 mg/L（含 100 mg/L）以下 3 种浓度的 SA 处理对 PPO 活性都是适宜的。

### 2.2　不同浓度 SA 处理对香荚兰叶片 SOD 和 POD 活性的影响

图 3 和图 4 表明：抗氧化系统酶系 SOD、POD 在 100 mg/L 以下浓度 SA 处理时活性比对照增加显著，这与 PAL、PPO 活性增加大体一致。

25 mg/L，50 mg/L，100 mg/L SA 处理酶活性呈上升趋势，效果比较好，50 mg/L SA 处理 SOD 活性最高，比对照高 44.8%，100 mg/L SA 处理 POD 活性最高，比对照高出 101.3%而 150 mg/L，200 mg/L 的高浓度 SA 处理，则明显抑制了 SOD、POD 的酶活性，活性最低时，SOD 活性分别比对照低 30%和 46.7%；POD 活性分别比对照低 43.5%和 66.7%。

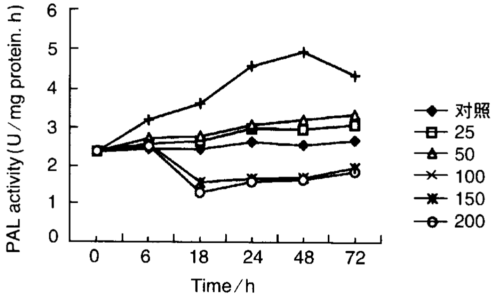

图 1 不同浓度 SA 处理 PAL 活性变化

Fig. 1 Changes of PAL activity after treated with different concentrations of SA

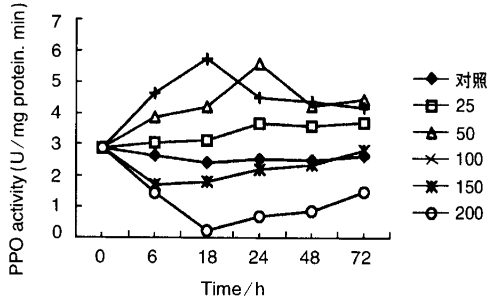

图 2 不同浓度 SA 处理 PPO 活性变化

Fig. 2 Changes of PPO activity after treated with different concentrations of SA

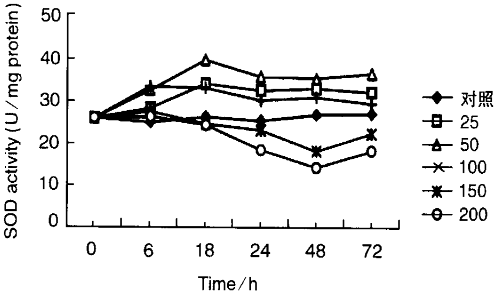

图 3 不同浓度 SA 处理 SOD 活性变化

Fig. 3 Changes of SOD activity after treated with different concentrations of SA

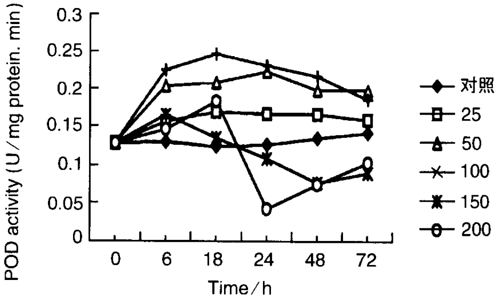

图 4 不同 SA 处理 POD 活性变化

Fig. 4 Changes of POD activity after treated with different contrentration of SA

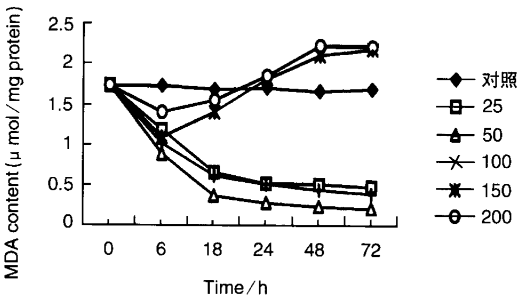

图 5 不同浓度 SA 处理 MDA 含量变化

Fig. 5 Changes of MDA content after treated with different concentrations of SA

由图 5 可以看出，用不同浓度 SA 处理，MDA 含量变化的不同。当用 25 mg/L，50 mg/L，100 mg/L SA 处理后 MDA 含量减少明显。其中 50 mg/L 处理 6 h，MDA 含量急剧下降，最低比对照下降 85.3% （72 h），这可能与 SOD、POD 活性增加有关。150 mg/L，200 mg/L 的 SA 处理 MDA 含量比对照明显增加，最高比对照增加 34.3%左右。这可能与此时 SOD、POD 的酶活性受抑制导致 MDA 累积有关。

## 3　讨论

参与植物体内多种生理代谢过程的 PAL、POD、SOD、PPO 和木质素，与植物的防卫反应及抗病性密切相关，因此通常用作衡量植物体内防卫反应的重要指标。PAL 作为苯丙烷类次生代谢的限速酶，参与植物的许多生理生化过程，其活性大小被认为是植物抗病能力的指标之一（余叔文等，1999）；PPO 和 POD 也参与植物次生代谢过程，它们的活性大小也与植物抗病有关（余叔文等，1999；段焰青等，2000）。在逆境中，植株常含有大量的活性氧积累，产生膜脂过氧化，膜脂过氧化为细胞死亡的一个重要前期事件（陈少裕，1991），膜脂过氧化到一定程度可造成细胞膜系统的损伤，严重时造成细胞破裂，使植物细胞膜的结构和功能受到损伤。SOD、POD 作为活性氧清除系统的保护酶、关键酶，其活性增加，并与相关酶的协调作用，可有效降低膜脂过氧化产物 MDA 的含量，避免或减轻植物在逆境下因活性氧积累而引起膜脂过氧化及其它伤害（宋风鸣等，1996）。SA 在植物生理生化的很多方面都有调控作用（陶宗娅等，1999；刘凤权等，2000），经 SA 预处理的黄瓜幼苗在低温胁迫过程中的存活率明显高于未经预处理的幼苗，而且 SOD 和 POD 均比未经预处理的幼苗高（庞金安等，2000）。

在大田香荚兰植株施用上的实验结果表明，50～100 mg/L 的 SA 处理，PAL、PPO、SOD、POD 的活性皆高于对照。MDA 的含量却低于对照，尽管每种浓度的 SA 对于香荚兰植株的处理引起各酶活性增加的幅度不一。而 150～200 mg/L 的 SA 处理对酶活性有抑制作用，MDA 含量却在增加。考虑到不同植物所适用的 SA 浓度范围不同（孙艳等，2000），把 SA 的浓度限制在 200 mg/L 以下。本试验证明了诱导香荚兰抗逆性酶活性增加的 SA 适宜浓度范围在 100 mg/L 以下，超过 150 mg/L 则将对酶活性起抑制作用。

2002 年 3 月下旬，香荚兰公司位于曼景傣、勐仑等地方的种植园的香荚兰正值盛花期，两次遭遇冰雹。根据历年的气候资料，西双版纳在 2 至 3 月时有倒春寒造成的低温和香荚兰花上的病害，我们在 2 月 18 日用 50～100 mg/L 的 SA 作一次处理，3 月 18 日作二次处理。在 3 月 21 日恰遇冰雹，事后的粗略统计表明，几近 100%的植株花序顶端变黑，很多小花顶端缩水萎蔫、脱落。而用 SA 处理过 2 次的实验植株中，只有少数（30%以下）植株出现这种情况，而且受害植株的花序顶端黑色较浅，小花很少脱落。150～200 mg/L 的 SA 处理，情况与未处理植株类似。这肯定了 50～100 mg/L 的 SA 处理确能明显提高香荚兰的抗冷性和抗病性。

综上所述，SA 虽能诱导植物的 PAL、PPO、SOD、POD 活性，但应控制浓度不宜过高，因为高浓度的 SA 对细胞具有损伤作用，降低细胞的活性，不利于细胞次生代谢物产量的进一步提高（兰文智等，2002）。建议对香荚兰施用的 SA 浓度在 100mg/L 以下，最好在低温来临前的 6～18 h 内施用。当然，有条件时应该采用大型人工气候室做低温处理或人工接菌种的试验，进一步探讨 SA 在香荚兰植株上的抗逆性。

## 〔参考文献〕

余叔文，汤章城主编，1999．植物生理学与分子生物学，第 2 版［M］．北京：科学出版社，770—783

李合生主编，2000．植物生理生化实验原理和技术［M］．北京：高等教育出版社，167—260

张志良主编，1990. 植物生理学实验指导［M］. 北京：高等教育出版社，305—306

Chen SY（陈少裕），1991. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell［J］. *Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**27**（2）：84—90

Duan YQ（段焰青），Chen SN（陈善娜），2000. The change of several enzymes activity in phloem of *Pinus yunnanensis* infected by fungi associatied with *Tomicus piniperda*［J］. *Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**36**（4）：327—329

Janda T，Szalai G，Tari IJ，*et al*，1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize（*Zea mays* L.）plants［J］. *Planta*，**208**：175—180

Pang JA（庞金安），Ma DH（马德华），2000. Effects of pretreatment with Salicylic acid on increasing the ability of cucumber seedling to tolerate low temperature［J］. *North China J Agric Sci*（华北农学报），**15**（1）：112—115

Lan WZ（兰文智），Yu LJ（余龙江），2002. Effects of salicylic acid on membrane-lipid peroxidation induced by fungal elicitor and taxol synthesis in *Taxus chanensis* suspension cell cultures［J］. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*（西北植物学报），**22**（1）：78—83

Liu FQ（刘凤权），Wang JS（王金生），2002. Systemic induction of several defense response enzymes in rice seedlings by Salicylic acid［J］. *Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**38**（2）：121—123

Raskin I，1992. Role of Salicylic acid in plants［J］. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*，**43**：439—463

Song FM（宋风鸣），Zheng Z（郑重），1996. Role of active oxygen and membrane lipid peroxidation in plant-pathogen interactions［J］. *Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**32**（5）：377—388

Sun Y（孙艳），Cui HW（崔鸿文），Hu R（胡荣），2000. Physiological effects of salicylic acid on quality seedling forming and chilling resistence of cucumber seedlings［J］. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*（西北植物学报），**20**（4）：616—620

Tao ZY（陶宗娅），Zhou Q（邹琦），1999. Effects of salicylic acid on osmotic injury on wheat seedling leaves［J］. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*（西北植物学报），**19**（2）：296—302

Zhang SG（张士功），Gao JY（高吉寅），1999. Mitigative effects of salicylic acid and asprin on salt stress-induced injuries in wheat［J］. *Acta Phytophsiol Sin*（植物生理学报），**25**（2）：159—164

* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

〔上接 686 页〕

Weng DB（翁德宝），Xu YJ（徐颖洁），1999. Evaluation on the protein quality of *Celosia cristata* L. leaves［J］. *J Wuhan Bot Res*（武汉植物学研究），**17**（1）：15—20

Xu YK（许又凯），Liu HM（刘宏茂），Tao GD（陶国达），2002. Wild vegetable resources characteristic and developing proposition in Xishuangbanna［J］. *Guihaia*（广西植物），**22**（3）：220—224

Yong Y（杨毅），Fu YS（傅运生），Wang WX（王万贤），*et al*，2000. Wild vegetable resources and their exploitation and utilization in Hubei［J］. *J Hubei Univ*（Nat Sci）（湖北大学学报（自然科学版）），**22**（3）：292—294

Yoshida Y，1990. Edible flowers in Southeast Asia［A］. In：Konta，Pei，Proceeding of the international symposium on flower-eating culture in Asia［C］，52—61

Zhu ST（朱圣陶），Wu K（吴坤），1988. Nutritional evaluation of protein-ration coefficient of amino acid［J］. *Acta Nutri Sin*（营养学报），**10**（2）：187—190